

**POHJOISEUROOPPALAISTEN LYHYTHÄNTÄLAMPaidEN
MOLEKYYLIGENEETTINEN VAIHTELU**

Terhi Luukkonen
Maisterintutkielma
Helsingin yliopisto
Maataloustieteiden laitos
Kotieläintiede
2018

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Maataloustieteiden osasto	
Tekijä — Författare — Author Terhi Luukkonen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Pohjoiseurooppalaisten lyhythäntälamppaiden molekyyligeneettinen vaihtelu			
Oppiaine — Läroämne — Subject Kotieläintiede / Kotieläinten jalostustiede			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterintutkielma		Aika — Datum — Month and year 4/2018	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 32 s.
<p>Tiivistelmä — Referat — Abstract</p> <p>Populaation riittävä perinnöllinen monimuotoisuus on tärkeää jalostusvalinnassa ja populaation selviytymisen kannalta. Tuotantoeläimillä populaation monimuotoisuutta, sukulaistumista ja sukusiitoksen kasvua on usein tutkittu sukulaisuustietoihin perustuvilla menetelmillä. Niiden luotettavuus riippuu sukupuun kattavuudesta. Populaation monimuotoisuuden tarkastelu genomitasolla antaa luotettavamman kuvan populaation todellisesta monimuotoisuudesta sukupuutason tarkasteluun verrattuna. Tutkimuksen tavoitteena oli tarkastella pohjoiseurooppalaisten lyhythäntälammasrotujen sukusiitosasteita ja rotujen eriytymistä ja sekoittumista genomiaiaineistoon perustuen.</p> <p>Käytettävä aineisto sisälsi 435 lammasta; suomenlampaita aineistossa oli 112, ahvenanmaanlampaita 22, texeleitä 94, islanninlampaita 96 ja romanov-rotuisista lampaita 102. Kaikki muut paitsi romanov-lamppaiden ja islanninlamppaiden näytteet oli kerätty Suomesta. Näytteet genotyypitettiin Illumina ovine 700K BeadChip-sirulla. PLINK ohjelmaa käyttäen arvioitiin populaatioiden eriytyminen, keskimääräinen homotsygotia ja määritettiin yhtenäiset homostygotian jaksot (runs of homozygosity eli ROH). Sukusiitos arvioitiin joko näihin ROH:in perustuen (F_{ROH}), yleiseen homotsygotiaan (F_{PH}) tai standardoituun homotsygotiaan (F_{HOM}) perustuen. Populaatioiden sekoittumista tarkasteltiin Admixture-ohjelmalla.</p> <p>Keskimääräiset sukusiitosasteet (F_{ROH}) roduittain olivat: ahvenanmaanlammas (0,17), suomenlammas (0,09), texel (0,13), islanninlammas (0,15) ja romanov (0,08). Pääkomponenttianalyysin perusteella keskenään läheisimmät rodut olivat suomenlammas ja ahvenanmaanlammas. Tosin rotujen sekoittumisesta tarkastelevassa analyysissä suomenlammas ja ahvenanmaanlammas erottuivat toisistaan. Saadut tulokset ovat samansuuntaisia kuin aikaisemmat suomalaisten lammaspopulaatioiden perinnöllistä monimuotoisuutta selvittäneet tutkimukset.</p> <p>Tutkimuksen tulosten perusteella kotimaisten rotujen geneettisen monimuotoisuuden tilanne on hyvä ja kestäväällä pohjalla. Jotta tilanne pysyisi hyvänä, on tärkeää jatkaa lammaskirjasto- ja jalostusohjelmien ylläpitoa ja edelleen panostaa säilytysohjelmaan.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords lammas, monimuotoisuus, sukusiitos, SNP, ROH			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Viikin kampuskirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Työtä ohjasi: prof. Pekka Uimari ja MMM Katja Martikainen			

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author Terhi Luukkonen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Pohjois-Eurooppalaisten lyhythäntä lampaiden molekyylligeneettinen vaihtelu			
Oppiaine — Läroämne — Subject Animal breeding			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis		Aika — Datum — Month and year 4/2018	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 32 p.
<p>Tiivistelmä — Referat — Abstract</p> <p>The adequate genetic diversity of the population is important for selection and population adaptation. In production animals, population diversity, coancestry and the rate of inbreeding have often been studied based on pedigree information. Their reliability depends on the quality of the pedigree. Analysis of population diversity at the genomic level gives more reliable estimates of the true diversity of populations than pedigree. The aim of this study was to estimate inbreeding in North European short-tail sheep populations and the differentiation and admixture of the breeds based on the genomic data.</p> <p>The data contained 435 sheep; 112 Finnsheep, 22 Åland, 94 Texel, 96 Iceland, and 102 Romanov sheep. All samples but Romanov and Iceland sheep samples were collected in Finland. The samples were genotyped with Illumina ovine 700K BeadChip. Using the PLINK program, population segregation, mean homozygosity and runs of homozygosity (ROH) were evaluated. Inbreeding was estimated either based on ROH sequences (F_{ROH}), general homozygosity (F_{PH}) or standardized homozygosity (F_{HOM}). Population mixing was studied with the Admixture program.</p> <p>The average inbreeding levels (F_{ROH}) were 0,17 for Åland sheep, 0,09 for Finnsheep, 0,13 for Texel, 0,15 for Iceland sheep, and 0,08 for Romanov. Based on the multidimensional scaling, the genetically closest breeds were the Finnsheep and Åland sheep, although in the analysis of admixture, Finnsheep and Åland sheep formed separate populations. The results obtained are in line with previous studies on the genetic diversity of the Finnish sheep populations.</p> <p>Based on the results, the genetic diversity of native sheep breeds is sufficient and on a solid basis. In order to keep the situation good, it is important to continue maintaining sheep registers and breeding programs and continue to invest in the preservation program.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Sheep, diversity, inbreeding, SNP, ROH			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Viikki Campus Library			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Supervisors: Pekka Uimari and Katja Martikainen			

Sisällys

1.	JOHDANTO	5
2.	KIRJALLISUUSKATSAUS	6
2.1.	Lampaan domestikaatio.....	6
2.2.	Lampaan geneettinen monimuotoisuus.....	6
2.3.	Sukusiitoksen vaikutukset	7
2.4.	Alapopulaatioiden merkitys	8
3.	TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	8
4.	AINEISTO JA MENETELMÄT	9
4.1.	Genotyytit.....	9
4.2.	Sukusiitoksen arvioiminen	9
4.3.	Populaatioiden eriytymisen visualisointi	11
4.4.	Populaatioiden sekoittuminen	12
5.	TULOKSET	12
5.1.	Genotyyppityksen onnistuminen.....	12
5.2.	Sukusiitosaste F_{HOM} ja F_{PH}	17
5.3.	Homotsygoottiset jaksot.....	19
5.4.	Sukusiitosasteen arvioiden väliset korrelaatiot	21
5.5.	Populaatioiden eriytyminen	22
5.6.	Populaatioiden sekoittuminen	23
6.	TULOSTEN TARKASTELU	25
7.	JOHTOPÄÄTÖKSET	28
8.	LÄHTEET	30

1. JOHDANTO

Populaation riittävä perinnöllinen monimuotoisuus on tärkeää jalostusvalinnoissa, mutta myös populaation selviytymisen kannalta. Vain tarpeeksi monimuotoinen populaatio selviää ympäristön tai tautipaineen äkillisesti muuttuessa. Tuotantoeläimillä populaation monimuotoisuutta, sukulaistumista ja sukusiitoksen kasvua on usein tutkittu sukulaisuustietoihin perustuvilla menetelmillä. Niiden luotettavuus riippuu yleensä sukupuun kattavuudesta, ja populaatioissa, joissa eläinten rekisteröinti on vajavaista tai joihin tuodaan populaation ulkopuolelta eläimiä, monimuotoisuuden arviot ovat yleensä liian optimistisia. Sukupuuaineistoon perustuvat menetelmät eivät ota huomioon meioosissa tapahtuvaa vaihtelua, sillä yksilöt, joilla on sama sukulaisuussuhde, esim. täyssisaret, voivat olla odotukseen verrattuna hyvinkin erilaisia perimältään.

Populaation monimuotoisuuden tarkastelu genomitasolla antaa luotettavamman kuvan populaation todellisesta monimuotoisuudesta sukupuutason tarkasteluun verrattuna (Gomez-Raya ym. 2015). Populaatiorakenteen ymmärtäminen molekyyligeneettisellä tasolla on tärkeää populaation monimuotoisuuden ylläpitämiselle, kun halutaan tietoa ominaisuuksien biologista taustoista ja kun tehdään genomista valintaa.

Rotujen ja populaatioiden väliset sukulaisuudet ovat kiinnostavia populaatioiden kehityshistorian kannalta, ja tietoa voidaan käyttää myös säilytysohjelmien perustana. Ulkonäöltään samankaltaiset, tai samalla alueella olevat populaatiot voivat olla geneettisesti eriytyneitä, mikä niiden kehittämisessä tai mahdollisessa suojelussa tulisi ottaa huomioon. Rotujen ja alapopulaatioiden geneettisen monimuotoisuuden tilanne ja rakenne ovat erittäin arvokasta tietoa sekä rotujen jalostukseen osallistuville tuottajille, että jalostusorganisaatioille.

Molekyyligeneettinen tutkimus on antanut uutta tietoa kotieläinlampaiden historiasta ja rotujen välisistä hienoisista eroista (Kijas ym. 2009). Tutkimusten mukaan lammasrodut ovat geneettisesti hyvin samanlaisia. Suurin osa länsimaisista roduista on muodostunut viimeisten 200 vuoden aikana. Monissa roduissa ihmisen tekemä valinta on vaikuttanut rodun nykytilaan, ja vain harva rotu on pysynyt muista eriytyneenä populaationa (Kijas ym. 2009).

2. KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1. Lampaan domestikaatio

Lammas on yksi vanhimmista kotieläimistä. Lampaan domestikaatio alkoi noin 11000 vuotta sitten villistä muflonista ja kotieläimenä se levisi Eurooppaan useammassa aallossa. Ensimmäisestä aallosta on vielä jäljellä alkukantaisia rotuja edustavat suomenlammas, ahvenanmaanlammas ja kainuunharmaa (Niemi ym. 2013). Näiden rotujen kantavanhemmat saapuivat Skandinaviaan 4000–6000 vuotta domestikaation jälkeen ja Islantiin lammas kulkeutui 1000 vuotta sitten pääasiassa Norjasta (Tapio ym. 2005).

2.2. Lampaan geneettinen monimuotoisuus

Tieto populaation monimuotoisuudesta on tärkeää rodun jalostusohjelman suunnittelussa. Jalostus tarvitsee toimiakseen vaihtelua. Muuttuneet tuotanto-olosuhteet ja rotujen välinen kilpailu markkinoilla ovat ajaneet monet alkuperäisrodut sukupuuton partaalle. Lisäksi pässeihin kohdistuvat laatuvaatimukset voivat johtaa äkkiä tehollisen populaatiokoon alenemiseen, kun yhä harvempi pässi kelpaa jalostukseen. Täten populaation sisältämän monimuotoisuuden tunteminen on tärkeää tehokasta säilytys- ja suojelutyötä suunniteltaessa (Tapio ym. 2010).

Lampaan geneettistä historiaa on tutkittu kolmella eri lailla vaihtelua mittaavalla menetelmällä. Mitokondriaalinen DNA ja sen emältä periytyvät haplotyypit kertovat tarinan kotieläin lampaan kehityksen vaiheista. Y-kromosomin tutkiminen on selvittänyt urosten merkitystä rotujen kehittymiseen. Mikrosatelliittien avulla on arvioitu geneettistä monimuotoisuutta (Kijas ym. 2009). Monet alkukantaiset rodut ovat säilyneet hyvin monimuotoisina. Mikrosatelliittitutkimusten mukaan lähimpinä alkuperäistä kesytyspaikkaa olevat rodut ovat geneettisesti monimuotoisimpia. Näillä roduilla on voinut säilyä alleelivaihtelua, jota ei ole muualla lainkaan (Tapio et al. 2010). Toisaalta eri alueilla on tapahtunut aikojen kuluessa populaatioiden välistä muuttoliikettä; esimerkiksi Volgan alueen lampaissa pelkästään fenotyyppisiin eroihin perustuen voidaan todeta risteytymistä (Tapio ym. 2007).

Pohjoiseurooppalaiset lyhythäntälampaat ovat hyvin tutkittuja ja kartoitettuja rotuja. Suomenlammas on monimuotoinen rotu, jonka monimuotoisuus on säilynyt tutkimusten mukaan stabiilina 100 vuotta (Tapio ym. 2007). Toisaalta toinen suomalainen lammasrotu, ahvenanmaanlammas, on kärsinyt pullonkaulailmiöstä (Niemi ym. 2013). Suomalaisten lammasrotujen populaatiokoot ovat vaihdelleet markkinoiden ja lihanhinnan muutosten mukaisesti. Suomenlampaiden määrä laski huomattavasti 1950-1970 luvuilla. Myös Suomen liittyminen Euroopan unioniin vaikutti lampaiden määrään. Vuonna 2009 tehdyn tutkimuksen mukaan populaatiokoon notkahdukset eivät kuitenkaan aiheuttaneet ongelmia suomenlampaan monimuotoisuudelle. Suomenlampaiden sukulaisuusaste on noussut vuosina 1989-2005 kohtuulliset 0,025% (Li ym.2009).

2.3. Sukusiitoksen vaikutukset

Sukusiitoksella tarkoitetaan kahden eläimen paritusta, jossa vanhemmilla on yhteinen esivanhempi (Curik ym. 2014). Sukusiitos lisää koko genomin yhdenmukaisuutta. Vahvan määrätietoisen jalostuksen seurauksena populaatioiden sukusiitosasteet yleensä nousevat ja resessiiviset alleelit yleistyvät. Tämä johtaa epätoivottujen fenotyyppien yleistymiseen ja yleensä tämä näkyy tuotantoeläimissä populaatioiden fitness-ominaisuuksien taantumisenä (Kim ym. 2015).

Populaation nousevaan sukusiitosasteeseen liittyvää suorituskyvyn laskua kutsutaan sukusiitostaantumaksi eli sukusiitosdepressioksi. Tutkimuksissa on havaittu sukusiitosdepression vaikuttavan karitsoiden painoihin ja vuonuekokoihin (Norberg ym. 2014). Esimerkiksi texel-rodulla sukusiitosasteen 10%:n nousu laskee syntyvien karitsoiden painoa 1,2-2,4% (Norberg ym. 2014). Sioilla jokainen 10%:n nousu sukusiitosasteessa vähentää yhden elävänä syntyneen porsaan emakon elinikäistuotoksesta (Peripolli ym. 2016). Ihmisillä tehdyt genomin laajuiset tutkimuksissa on löytynyt yhteys genomin homostygoitumisen ja resessiivisten sairauksien välillä (Peripolli ym. 2016).

Sukusiitosdepressio haittaa jalostusohjelmien toimintaa, koska alentunut tuotos ja vaihtelu vähentävät jalostusvalinnalla saatua muutosta (Peripolli ym. 2016). Sukusiitos onkin tärkeä mitta, jolla valvotaan ja ohjataan jalostusohjelmien toimintaa (Norberg ym.

2014). Valinnalla saatu edistyminen ja hyvät tuotanto-olosuhteet voivat peittää sukusiitoksen haitalliset vaikutukset (Norberg ym. 2014). Koko genom tilaan vaikuttaa populaation jakaantuminen alapopulaatioihin, sukusiitos ja sukusiitoksen välttely, kun jalostuksen keinona valinta vaikuttaa vain valittuihin fenotyyppisiin liitettyihin lokuksiin (Zhang ym. 2015). Vaikka sukusiitoksen haitalliset vaikutukset on pitkään tunnettu eläinten kasvattajien parissa, on sukusiitosta käytetty ominaisuuksien ja eläinten muuttamiseen yhtenäisemmäksi ja laadultaan tasaisemmiksi (Curik ym. 2014).

2.4. Alapopulaatioiden merkitys

Populaatiot ja rodut eivät koostu yhteneväisestä joukosta keskenään sattumanvaraisesti lisääntyvistä eläimistä. Rotuja jakaa pienempiin alapopulaatioihin monet tekijät, esimerkiksi kulttuuriset ja maantieteelliset rajat. Pääpopulaatiosta erkaantuminen lisää alapopulaatioissa esiintyvää sukusiitosta ja homostygotiaa. Näissä erottuvissa alapopulaatioissa yksilöt ovat yleensä enemmän sukua keskenään kuin valtapopulaatioissa. Arvioitaessa populaation monimuotoisuutta on tärkeää tiedostaa, onko populaatioissa piilevää jakaantumista alapopulaatioihin. Esimerkiksi valinta voi vaikuttaa eri tavalla alapopulaatioiden monimuotoisuuteen (Excoffier 2007).

Rodut ovat muodostuneet ajan kuluessa pienempien populaatioiden sulautuessa yhteen. Aikaisemmassa tutkimuksessa Tapio ym. (2005) totesivat suomenlampaan perustuvan kahteen alkupopulaatioon, samoin ahvenanmaanlampaan ja romanovin. Sama tutkimus osoittaa islanninlampaan koostuvan yhdestä perustuspopulaatiosta, ja texelin olevan jalostettu kuudesta perustajapopulaatiosta.

3. TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tutkimuksen tavoitteena oli arvioida pohjoiseurooppalaisten lammasrotujen perinnöllistä vaihtelua SNP-genotyyppiaineistoon perustuen. Tutkimuksessa verrattiin viiden rodun monimuotoisuutta (genominen sukusiitos) pitkien homotsygoottisten kromosomijaksojen (Runs of Homozygosity, ROH) avulla ja rotujen eriytymistä ja sekoittumista.

4. AINEISTO JA MENETELMÄT

Aineisto koostui viiden lammasrodun genotyypitiedoista. Roduista neljä oli pohjoiseurooppalaisia lyhythäntälampaita ja yksi hollantilaista alkuperää oleva texel. Yhteensä aineisto sisälsi 435 lammasta; suomenlampaita aineistossa oli 112, ahvenanmaanlampaita 22, texeleitä 94, islanninlampaita 96 ja romanov-rotuisista lampaita 102. Kaikki muut paitsi romanov-lampaiden ja islanninlampaiden näytteet oli kerätty Suomesta. Romanov-lampaiden näytteet oli kerätty yhdestä suuresta katraasta Venäjältä ja islanninlampaiden näytteet oli kerätty useasta katraasta ympäri Islantia. Aineisto saatiin prof. Juha Kantaselta (Luonnonvarakeskus LUKE).

4.1. Genotyypit

Tutkielmassa käytettiin Illuminan Ovine HD BeadChip –sirulla analysoituja SNP-genotyyppejä. Ovine HD BeadChip perustuu International Sheep Genomics Consortium (ISGC) vuonna 2012 aloittamaan suuritiheyksisen SNP-sirun kehittämisprojektiin (ISGC 2012). Sirun kehitystyössä käytettiin koko genomin sekvensointia ja SNP-variantit kartoitettiin 75 yksilöstä, jotka edustivat 41 lammasrotua ja villilampaita (ISGC 2012). Tavoitteena oli, että sirulla olisi 700 000 toimivaa SNP-merkkiä, mutta laatukontrollin jälkeen sirulla oli jäljellä hieman yli 600 000 SNP-merkkiä (Illumina 2016). Tässä tutkielmassa käytettävät genotyypit ja tarvittavat DNA:n eristykset teki Institute for Molecular Medicine Finland (FIMM). Aineisto saatiin prof. Juha Kantaselta (Luonnonvarakeskus LUKE).

4.2. Sukusiitoksen arvioiminen

Tutkimuksessa analysoitiin lampaiden sukusiitosastetta kolmella eri menetelmällä. Yksinkertaisin sukusiitosta kuvaava parametri on eläinten homotsygotiaan perustuva sukusiitosaste F_{PH} (PH muodostuu sanoista percent homozygosity eli prosentuaalinen homotsygotia), joka kuvaa homotsygoottien genotyyppien osuutta eläimen kaikista genotyypeistä. Se ei absoluuttisena arvona kuvaa suoraan eläimen mahdollista

sukusiitosastetta, mutta eläinten väliset erot F_{PH} :ssa kuvaavat eläinten suhteellisia eroja myös sukusiitosasteessa. Toinen tutkielmassa käytetty arvio eläimen sukusiitosasteelle oli F_{HOM} , joka myös perustuu yksilön homotsygotiaan ja on skaalattu oletetun homotsygotian avulla (Purcell ym. 2007):

$$F_{HOMi} = \frac{(O_i - E_i)}{(L_i - E_i)}$$

Kaavassa O_i on yksilön i havaittu homostygoottien SNP:ien lukumäärä, E_i on alleelifrekvensseihin perustuva odotettu homostygoottien SNP:ien lukumäärä ja L_i on SNP:ien kokonaismäärä. Ongelma pelkkään homotsygotia-asteeseen perustuvissa menetelmissä on, että ne eivät erota homotsygotian alkuperää. Homotsygotia voi johtua pelkästään siitä, että alleelit sattuvat olemaan samat (IBS, identical by state) tai siitä että ne on peritty samalta esivanhemmalta (IBD, identity by decent) (Bjelland ym. 2013).

Sukusiitos nostaa yksilön yleistä homostygotiaa, mutta tämä ei näy yksittäisinä sattumanvaraisina homostygoottisina SNP-merkkeinä, vaan enemmän pitkinä usean homostygoottisen SNP-merkin jonoina (Bjelland ym. 2013). Tutkielmassa käytetty kolmas menetelmä sukusiitoksen arviointiin pyrkii ottamaan homotsygotian alkuperän huomioon ja se perustuu pitkien yhtäjaksoisten homostygoottisten jaksojen osuuteen genomista (F_{ROH} , ROH on englanninkielinen lyhenne sanoista ”runs of homostygoty”). Oletuksena on, että tällaiset yhtenäiset homostygoottiset jaksot, eli jono homostygoottisia genotyyppisiä, yksilö on perinyt identtisenä molemmilta vanhemmiltaan (Al-Mamun 2015). Jaksojen pituus riippuu yhteisen esivanhemman kaukaisuudesta sukupuussa: mitä pidempiä ROH:t ovat, sitä todennäköisempää on, että äskettäistä sukusiitosta on tapahtunut sukupuussa (Al-Mamun 2015). Oleellista on tapahtuneiden meioosien määrä. Mitä enemmän meiooseja, sen lyhyempiä ROH:t ovat. Kolmen sukupolven takaa ROH olisi 16,6 Mb pitkiä, viiden sukupolven takaa 10 Mb pitkiä ja kymmenen sukupolven takaa 5Mb pitkiä (Curik ym. 2014). Pitkät jaksot voivat johtua myös epänormaalista mutaatiosta, kytkentäepätasapainosta ja rekombinaatiotason vaihteluista (Al-Mamun 2015). Lyhyet jaksot voivat puolestaan kertoa pitkäaikaisesta sukulaisuudesta, mitä ei näe muutaman polven sukutaulun tietojen pohjalta. Tämä voi kuvastaa rodun tai populaation perustajien vaikutusta nykypopulaatioon (Purfield ym. 2012).

F_{ROH} -arvoa laskiessa käytetyn markkerikartan oikeellisuus on tärkeää. Jokainen virhe SNP:n karttapaikassa vaikuttaa suoraan ROH:ien pituuksiin ja sukusiitoslaskujen

tulokseen. Mahdollisten virheiden määrä vaikuttaa F_{ROH} :n ja sukutauluista lasketun sukusiitoksen korrelaatioihin (Gomez-Raya ym. 2015). F_{ROH} laskelmat eroavat F_{HOM} :sta koska niihin ei vaikuta alleelifrekvenssit, vaan ne lasketaan vain suoraan genomidatasta. Kuitenkin ROH-laskelmiin vaikuttaa suuresti käytettävän genomidatan SNP-tiheys (Zhang ym. 2015).

Genomista sukusiitosta arvioitiin PLINK-ohjelmalla (Purcell ym. 2007). PLINK on suunniteltu suurten genotyyppiaineistojen käsittelyyn ja analysointiin. PLINK on yleisesti käytetty ohjelma koko genomien assosiaatioanalyyseissä, mutta sen avulla voidaan tutkia myös aineiston populaatorakennetta. Tässä tutkielmassa käytettiin PLINK:n versiota 1.07. Tutkimuksessa ROH-alueiksi hyväksyttiin yli 500 kb:in pituiset jaksot kromosomeissa. Näitä etsittiin määritettynä 50 SNP:n mittaisella ikkunalla yhden SNP:in siirtymällä kerrallaan, käyttäen yhden SNP-markkerin intervallia. Ikkunassa sallittiin kaksi puuttuvaa SNP-markkeria eli puuttuvaa genotyyppiä ja yksi mahdollinen heterostygootin genotyyppi (*plink --sheep --noweb --missing-phenotype NA --bfile <data> --homozyg-kb 500 --homozyg-snp 58 --homozyg-het 1 --homozyg-match 50 --maf 0.05 --max-maf 0.5 --geno 0.1 --hwe 0.00001 --mind 0.1 --homozyg-window-missing 2 --homozyg-gap 100 --allow-no-sex*). Lopullinen arvo F_{ROH} :sta saatiin summaamalla kaikkien niiden SNP:ien, jotka kuuluivat ROH-alueille, määrä yhteen ja jakamalla saatu summa SNP:ien kokonaismäärällä (huomioiden rajoitteet genotyyppitysten onnistumiselle, alleelifrekvenssille ja Hardy-Weinbergin tasapainolle).

4.3. Populaatioiden eriytymisen visualisointi

Populaatioiden eriytymistä visualisoitiin MDS:n eli multi dimensional scaling avulla. MDS perustuu genotyypeistä arvioituihin eläinten välisiin geneettisiin etäisyyksiin (D_{ij}) ja niistä laskettuihin pääkomponentteihin. D_{ij} arvioitiin kaavalla:

$$D_{ij} = 1 - \frac{IBS2 + \frac{1}{2}IBS1}{N}$$

missä $IBS1$ on niiden SNP:n määrä, joissa eläimet i ja j jakavat yhden saman alleelin (esim. jos eläimen i genotyyppi AA ja eläimen j genotyyppi AC, niin alleeli A on yhteinen) ja $IBS2$ on niiden SNP:n määrä, joissa molemmat alleelit ovat samoja (esim. AA ja AA). N on SNP:n kokonaismäärä. MDS-menetelmällä laskettuja yksilöiden välisiä

geneettisiä etäisyyksiä voidaan visualisoida joko kahden tai useamman pääkomponentin avulla. Tutkielmassa geneettisten etäisyyksien arvioinnista käytettiin vain SNP:iä, joiden välillä kytkentäepätasapaino oli heikko (lokusten alleelifrekvenssien korrelaation neliö $r^2 < 0.1$). SNP:n karsinta tehtiin PLINK:n käskyllä: *plink --sheep --noweb --missing-phenotype NA --bfile <data> --indep-pairwise 50 10 0.1 --allow-no-sex*. Annetulla kytkentäepätasapainon rajoitteella 604 715 markkerista geneettisten etäisyyksien arviointiin käytettiin 58 909 markkeria.

4.4. Populaatioiden sekoittuminen

Populaatioiden sekoittumista ja samalla myös eläinten molekyylogeneettistä taustaa kuvattiin Linux-pohjalla toimivalla Admixture-ohjelmalla. Admixture on ohjelma, joka arvio kuinka monta prosenttia eläimen genomista on peräisin eri populaatioista. Analyysissä populaatioiden lukumäärä voidaan muuttaa. Analyysi voidaan suorittaa olettaen, että aineiston yksilöt ovat alkuperältään kahdesta eri populaatiosta tai kolmesta, neljästä jne. Toimiakseen luotettavasti analyysiin tarvitaan 10 000–100 000 markkeria riippuen populaatioiden rakenteesta ja eriytymisestä. Tässä tutkimuksessa käytettiin 581 909 markkeria. Analyysi ajettiin samalla tavoin yhdeksän kertaa arvoilla $K = 2-10$, jossa K on oletettujen alapopulaatioiden määrä.

5. TULOKSET

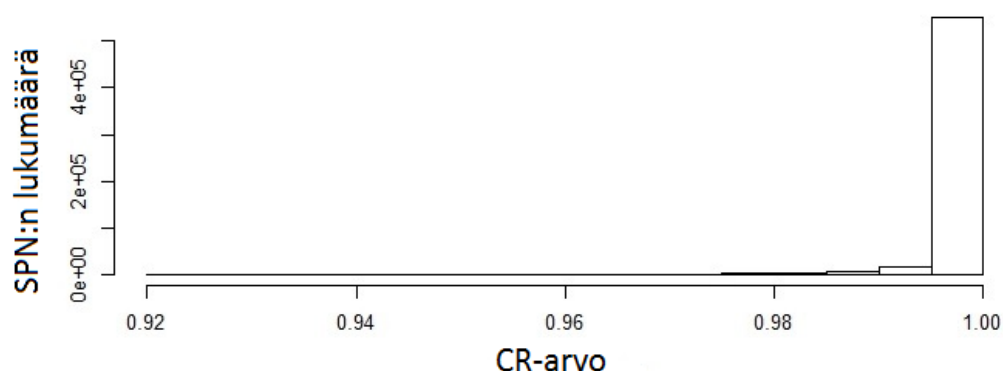
5.1. Genotyyppityksen onnistuminen

Genotyyppityksen onnistumista kuvataan ns. call rate -arvolla (CR) eli onnistuneiden genotyyppien osuutena kaikista genotyyppityksistä. CR voidaan laskea sekä näytekohtaisesti (lammas) tai SNP-kohtaisesti. Taulukossa 1 on esitetty CR:n jakauma yksilökohtaisesti koko aineistossa ja erikseen roduittain. Suurimmalle osalle näytteistä genotyyppitys onnistui erittäin hyvin ($CR > 0,95$) ja vain 7 näytettä 435:stä jouduttiin

hylkäämään alhaisen CR johdosta ($CR < 0,9$). Tuloksissa on mukana 9 kpl risteytyksiksi luokiteltuja lampaita. Näiden CR-arvot olivat yli 0,96, joten ne otettiin analyysihin mukaan verrokkiryhmänä. Rotujen välillä genotyyppityksen onnistumisessa ei ollut suuria eroja. Eniten jouduttiin hylkäämään suomenlampaiden näytteitä (4 kpl), mutta tämän rodun edustajia oli tutkimuksessa eniten. Myös kaksi islanninlammasnäytettä ja yksi romonov-näyte hylättiin ($CR < 0,9$).

Taulukko 1. Eläinkohtaisten CR-arvojen jakauma roduittain

CR	Koko aineisto	Suomen-lammas	Ahvenan-maanlammas	Islannin-lammas	Romanov	Texel
yli 0.95	435	108	22	89	101	94
0.90 – 0.95	5	0	0	5	0	0
alle 0.90	7	4	0	2	1	0



Kuva 1. SNP-kohtaisten CR-arvojen jakauma koko aineistossa

SNP-kohtaisten CR-arvojen jakauma koko aineistossa on esitetty kuvassa 1 ja roduittain eriteltynä taulukossa 2. Suuren SNP-merkkimäärän vuoksi kuvaajat havainnollistavat huonosti genotyyppityksen onnistumista. Kuvassa 1 SNP:ien jakauma on eksponentiaalinen CR-arvolle, jotta erot saataisiin näkyviin. Kokonaisuudessaan genotyyppitys onnistui hyvin. Kun aineistosta karsittiin markkerit, joiden CR oli alle 0,90 koko aineistosta laskettuna, analyysiin jäi 577 928 markkeria. SNP-kohtaiset CR-arvot vaihtelevat paljon lammasrotujen välillä. Ahvenanmaanlampaista löytyy muutamia SNP:jä, joilla on hyvin alhaiset CR-arvot. Toisaalta $CR = 0,90$ raja-arvon ylitti 99,9 % markkereista. Suomenlampaalla 99% markkereista ylitti raja-arvon. Texel-lampaiden SNP-kohtaiset CR:t ovat erittäin korkeat, jopa 93% markkerista antoi $CR > 0,99$ ja yli 99% markkerista

ylitti 0,90:n raja-arvon. Yhtä hyvin onnistuivat myös romanovien SNP-markkerit, 94% markkereista sai 0,99:n CR-arvon ja 99% markkereista hyväksyttiin analyysieihin. Islanninlampailla ylimmät CR-arvot olivat 0,97, kuitenkin 98% markkereista ylitti raja-arvon.

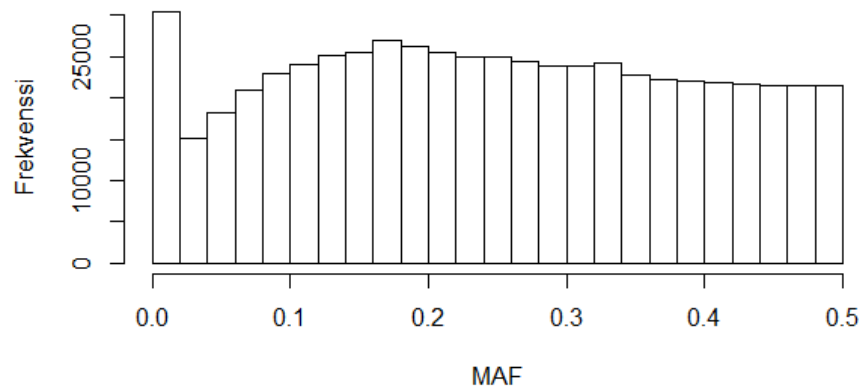
Taulukko 2. SNP-kohtaisten CR-arvojen jakauma roduittain

CR	Koko aineisto	Suomenlammas	Ahvenanmaanlammas	Islanninlammas	Romanov	Texel
yli 0.95	2882487	572568	580528	568257	580626	580508
0.90–0.95	23077	8947	718	11324	971	1117
alle 0.90	3981	394	663	2328	312	284

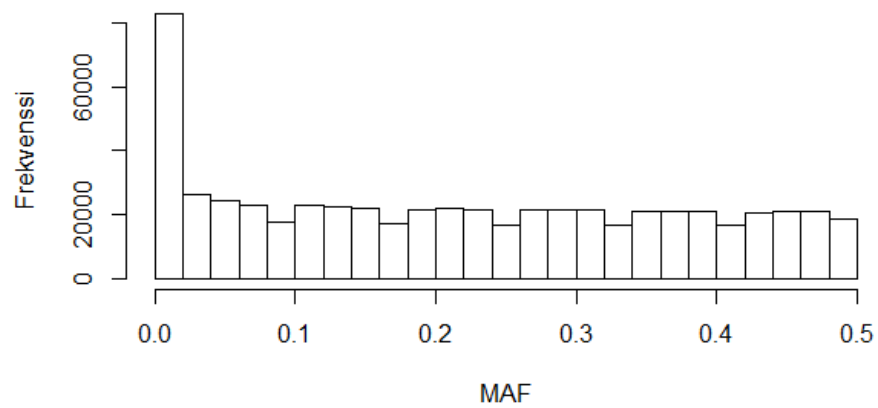
Analyysijä varten tutkimuksessa tehtiin SNP-markkeri kohtaiset call rate -karsinnat. Alle 0,90:n CR-arvon markkereita ei sisällytetty analyysieihin. Karsittujen markkereiden määrä roduittain oli: suomenlammas 394, romanov 312, ahvenanmaanlammas 663 ja texel 284 ja islanninlammas 2328.

Minor allele frequency (MAF) kertoo harvinaisemman alleelin frekvenssin. MAF-karsinnassa poistettiin SNP-markkerit, joissa ei ollut tarpeeksi vaihtelua. Tällainen markkeri ei ole analyysin kannalta informatiivinen eli se ei anna tutkimukselle hyödyllistä tietoa. Analyyseissä MAF:n minimirajana käytettiin 0,01:tä.

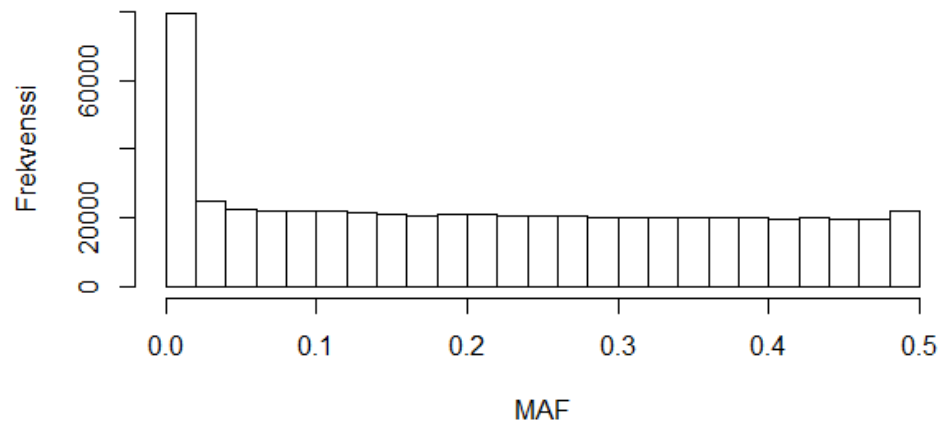
HWE-karsinnassa tarkoitus on poistaa SNP-markkerit, jotka eivät ole Hardy-Weinberg-tasapainossa. Karsinnan rajana käytettiin HWE-testin P-arvoa 0,0001. Kuvissa 3-7 on esitetty MAF-vaihtelu roduittain. Suuria eroja rotujen välillä ei havaittu. Suhteessa eniten fiksoituneita alleleja esiintyi ahvenanmaanolampaalla, islanninlampaalla ja romanovilla. Tasaisin jakauma oli suomenlampaalla.



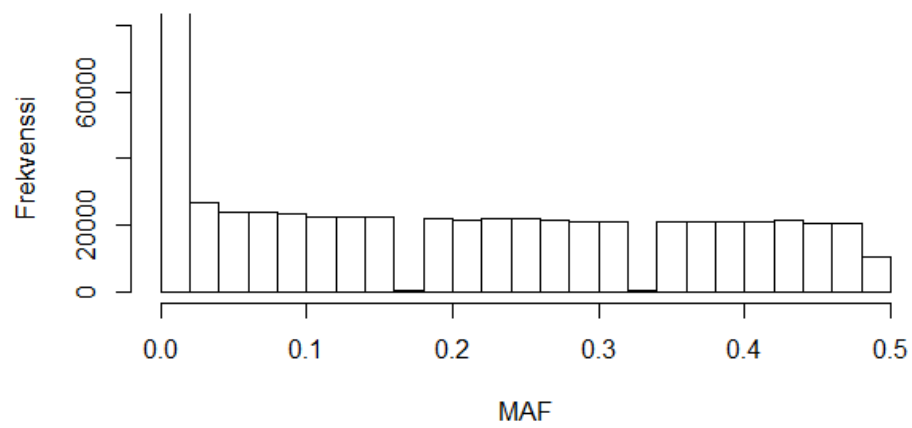
Kuva 1. Kaikkien lampaiden kaikkein markkereiden MAF-arvojen jakauma ilman rotujakoa



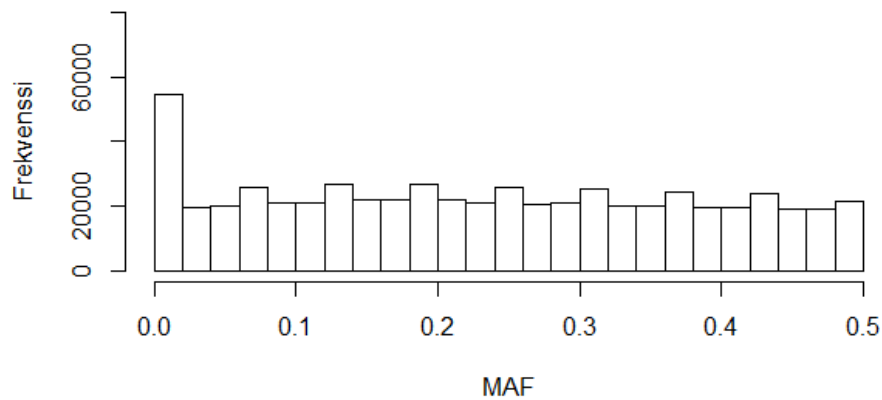
Kuva 2. Islanninlampaiden MAF-arvojen jakauma



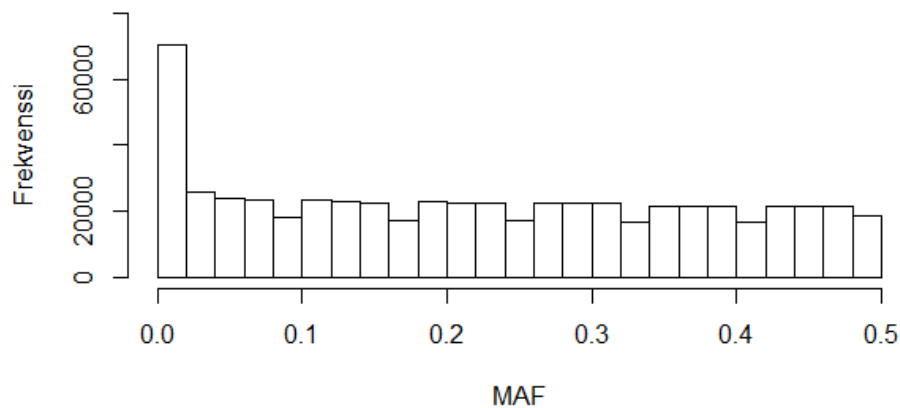
Kuva 3. Romanov-rotuisten lampaiden MAF-arvojen jakauma



Kuva 4. Ahvenanmaanlampaiden MAF-arvojen jakauma



Kuva 5. Suomenlampaan MAF-arvojen jakauma



Kuva 6. Texel-rotuisten lampaiden MAF-arvojen jakauma

5.2. Sukusiitosaste F_{HOM} ja F_{PH}

Taulukossa 3 on esitetty roduittain keskimääräisen sukusiitosasteen arviot kahdesta eri tavalla karsitusta aineistosta. Karsimaton aineisto tarkoittaa koko aineistoa ja karsittu aineisto tarkoittaa aineistoa, josta on poistettu SNP:t, joiden välillä on voimakas kytKentäepätasapaino ($r^2 > 0.5$). Sukusiitosasteen negatiiviset arvot voivat johtua otantavirheestä, mutta todennäköisesti tuloksissa on yksilöitä, joiden tulos on

negatiivinen eli yksilöllä on vähemmän homostygootteja genotyyppejä kuin olisi odotettavissa sattumalta. Jos tulos olisi hyvin negatiivinen, se on todennäköisesti virheellinen. Yksilöt voivat saada arvot alimmasta -1 korkeimpaan +1 saakka. Yleisesti alleelifrekvensseihin perustuvan odotetun homotsygotian odotetaan vastaavan satunnaisesti pariutuvan populaation homotsygotiaa (Kardos ym. 2015). Negatiivisen arvon saaneilla roduilla texel, romanov ja ahvenanmaanlammas on vähemmän homotsygotiaa kuin mitä alleelifrekvenssien perusteella voisi olettaa. Suomenlampaalla ja islanninlampaalla on positiiviset arvot eli homotsygotiaa on enemmän. Kaikki poikkeamat ovat varsin pieniä eli kaikki rodut ovat hyvin lähellä satunnaisesti pariutuvan populaation arvoa 0.

F_{PH} :n absoluuttiset arvot eivät kuvaa populaation keskimääräistä sukusiitosta, mutta arvoja voidaan käyttää populaatioiden vertaamisessa. Tulosten perusteella texel-, romanov- ja ahvenanmaanlampaat ovat vähemmän homotsygoottisia kuin suomenlampaat ja islanninlampaat.

Taulukko 3. F_{HOM} - ja F_{PH} -arvot kahdella eri aineistolla laskettuna

Karsittu aineisto	F_{HOM}			F_{PH}		
	Keskiarvo	Mediaani	Keski-hajonta	Keski-arvo	Mediaani	Keski-hajonta
Suomenlammas	0,06	0,04	0,06	0,68	0,67	0,02
Texel	-0,02	-0,02	0,03	0,64	0,63	0,01
Romanov	-0,03	-0,04	0,04	0,62	0,62	0,01
Islanninlammas	0,06	0,06	0,06	0,66	0,66	0,02
Ahvenanmaanlammas	-0,04	-0,05	0,06	0,63	0,62	0,02
Karsimaton	F_{HOM}			F_{PH}		
	Keskiarvo	Mediaani	Keski-hajonta	Keski-arvo	Mediaani	Keski-hajonta
Suomenlammas	0,02	0,01	0,06	0,67	0,66	0,02
Texel	-0,02	-0,02	0,04	0,66	0,66	0,01
Romanov	-0,03	-0,04	0,04	0,66	0,65	0,01
Islanninlammas	0,06	0,06	0,07	0,69	0,69	0,02
Ahvenanmaanlammas	-0,03	-0,04	0,06	0,66	0,65	0,02

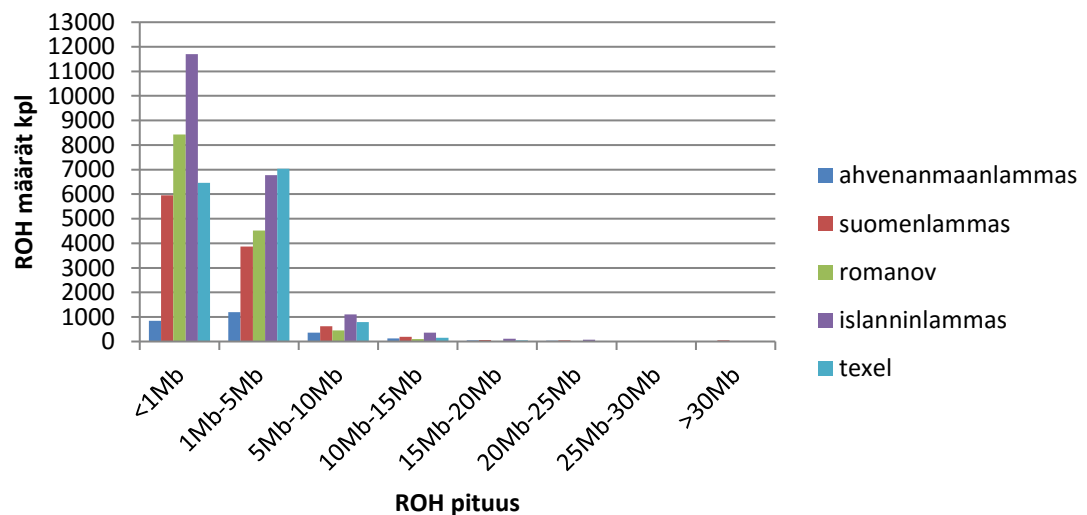
5.3. Homotsygoottiset jaksot

5.3.1. Homotsygoottisten jaksoiden jakauma

ROH:in määrät ja pituudet vaihtelivat rotujen sisällä ja olivat myös erilaisia eri roduissa. Aineiston suurin yhtäjaksoinen ROH sisälsi 16 889 SNP-merkkiä ja lyhin ROH sisälsi 58 SNP-merkkiä. ROH:n pituus (yksikkönä kb) vaihteli 500 007 kb:stä 9 194 329 kb:iin. ROH:ien keskiarvo oli 1950 kb ja mediaani 919 kb. Suurin osa (92 %) ROH:ista oli alle 5000 kb ja yli 25 000 kb:n ROH:ia oli vain 196 kpl eli 0.3 % kaikista ROH:ista (Kuva 8).

Taulukko 4. ROH:ien pituuksien jakauma (Mb) koko aineistossa

ROH:n pituus, Mb	lukumäärä
alle 5	59 929
5 - 10	3 515
10 - 15	966
15 - 20	325
20 - 25	184
yli 25	196



Kuva 8. ROH:ien pituudet (Mb) roduittain

Taulukko 5. ROH:-ien pituuksien jakauma (Mb) roduittain

	Ahvenanmaanlammas	Suomenlammas	Romanov	Islanninlammas	Texel
alle 1	842	5957	8435	11701	6459
1 - 5	1200	3869	4517	6776	7036
5 - 10	360	628	456	1098	795
10 - 15	129	187	101	362	156
15 -20	51	65	27	119	51
20 - 25	33	44	1	70	20
25 - 30	13	22	2	23	7
yli 30	12	45	4	19	17

Taulukossa 5 on esitetty ROH:-ien jakauma roduittain. Alle 1,5 Mb ROH:it liittyvät vanhaan sukusiitokseen (Kim ym. 2015). Tutkimuksessa löytyi lammasroduilta suurimmaksi osaksi lyhyitä ROH:eja. Eniten lyhyitä ROH:ja oli islanninlampaalla ja romanovilla.

5.3.2. Homotsygoottisista jaksoista lasketut sukusiitosasteet

ROH:-ien pituuksien perusteella lampaille voidaan laskea sukusiitosasteet. Taulukossa 6 on esitetty ROH:iin perustuvien sukusiitosasteiden keskiarvot, mediaanit ja hajonnat roduittain. Aineiston perusteella ahvenanmaanlammas, islanninlammas ja texel ovat enemmän sukusiitettuja kuin suomenlammas ja romanov. Populaation sisäistä vaihtelua sukusiitoksen määrässä eniten oli suomenlampaassa ja islanninlampaassa. Vähiten vaihtelua populaation sisäisessä sukusiitoksen määrässä oli texelillä. Islanninlampaalla keskimääräinen sukusiitosaste on verraten korkea. Ahvenanmaanlampaan korkea keskimääräinen sukusiitosasteen arvio tukee oletusta rodussa olleesta pullonkaulasta.

Taulukko 6. F_{ROH} -arvot roduittain

	Keskiarvo	Mediaani	Keskihajonta	Min	Max
Ahvenanmaanlammas	0,169	0,165	0,049	0,076	0,314

Suomenlammas	0,087	0,069	0,060	0,030	0,330
Texel	0,129	0,122	0,031	0,07	0,268
Islanninlammas	0,155	0,149	0,060	0,048	0,392
Romanov	0,076	0,068	0,037	0,025	0,353

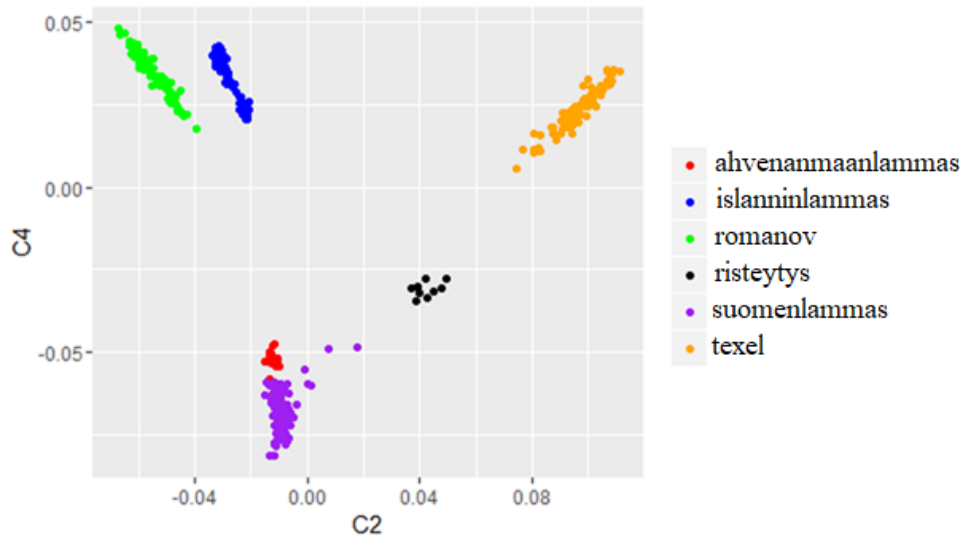
5.4. Sukusiitosasteen arvioiden väliset korrelaatiot

Taulukossa 7 on esitetty sukusiitoslaskelmien väliset korrelaatiot. Eri menetelmien väliset korrelaatiot ovat korkeita.

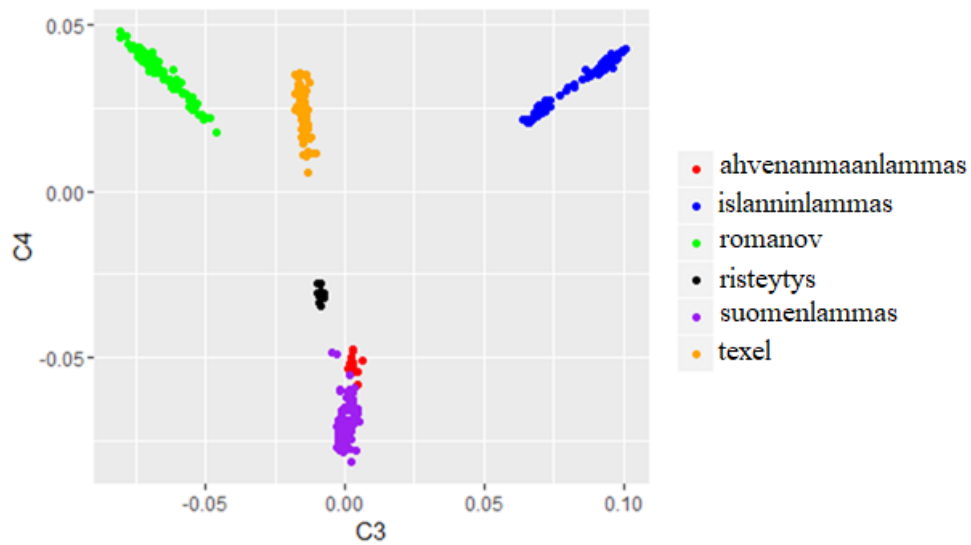
Taulukko 7. Eri menetelmien antamien sukusiitosasteen arvioiden korrelaatiot yksilöissä roduittain

	F_{PH} / F_{ROH}	F_{HOM}/F_{ROH}	F_{HOM}/ F_{PH}
Ahvenanmaanlammas	0,984	0,984	0,999
Islanninlammas	0,983	0,983	0,999
Romanov	0,974	0,974	0,999
Texel	0,969	0,969	0,999
Suomenlammas	0,989	0,989	0,999

5.5. Populaatioiden eriytyminen



Kuva 9. Populaatioiden väliset geneettiset erot esitettynä moniulotteisen skaalauksen (MDS) pääkomponenttien C2 ja C4 perusteella.



Kuva 10. Populaatioiden väliset geneettiset erot esitettynä moniulotteisen skaalauksen (MDS) pääkomponenttien C3 ja C4 perusteella.

Eri populaatioiden välistä geneettistä etäisyyttä on visualisoitu kuvissa 9 ja 10 MDS--analyysin pääkomponenttien C2, C3 ja C4 avulla. Rodut erottuvat toisistaan selvästi omina ryhminään ja kuvat antavat hyvin samankaltaisen tuloksen populaatioiden

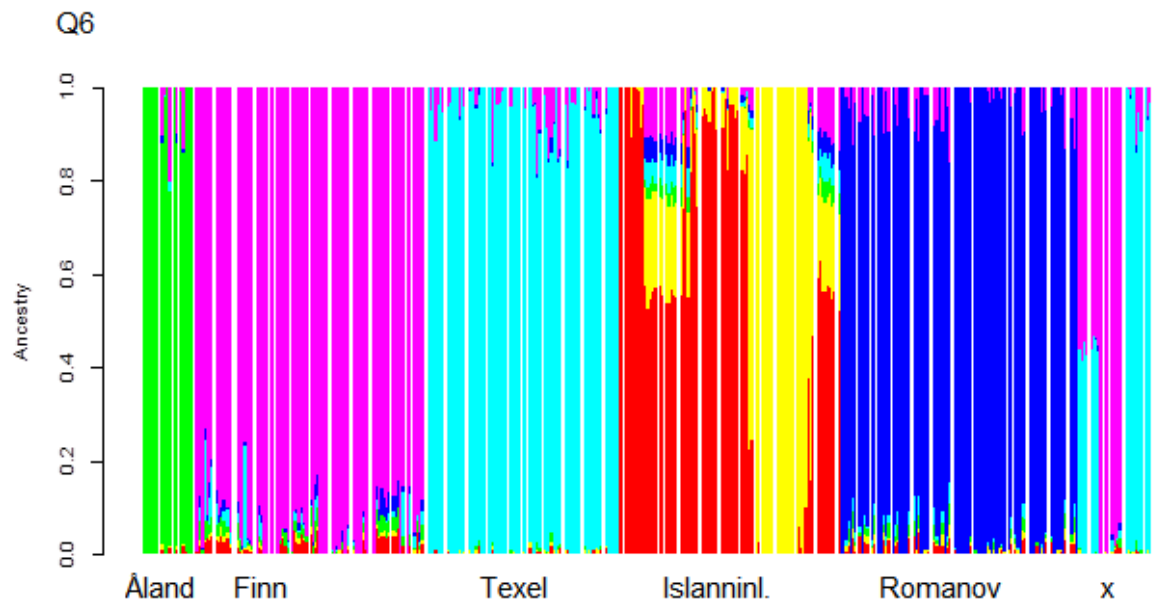
eriytymisistä. Kuvien 9 ja 10 mukaan ahvenanmaanlammas ja suomenlammas ovat läheistä sukua keskenään. Geneettinen läheisyys selittyy rotujen historialla, jolloin rotuja ei ollut eroteltu. Muille roduille ei näy selviä yhteyksiä. Islanninlammas, texel ja romanov muodostavat omat ryhmänsä ja pysyvät selvästi erillä muista roduista. Texel/suomenlammas risteytykset asettuvat puhdasrotuisten lampaiden välille. Maantieteellisesti jakauma on osuva, islanninlammas on eristäytynyt muista, ahvenanmaanlammas ja suomenlammas sijaitsevat samassa maassa ja romanovit etelämpänä Venäjällä. Romanovien ja suomalaisen rotujen yhdistymisen esteenä on todennäköisesti ollut maantieteellinen etäisyys ja kulttuuriset erot.

Kuvien perusteella voidaan päätellä myös populaatioiden lukumäärä (K-arvo), kun tutkitaan populaatioiden sekoittumista Admixturessa ohjelmassa. Rodut jakaantuvat kuuteen ryhmään, joista yksi on risteyseläinten ryhmä.

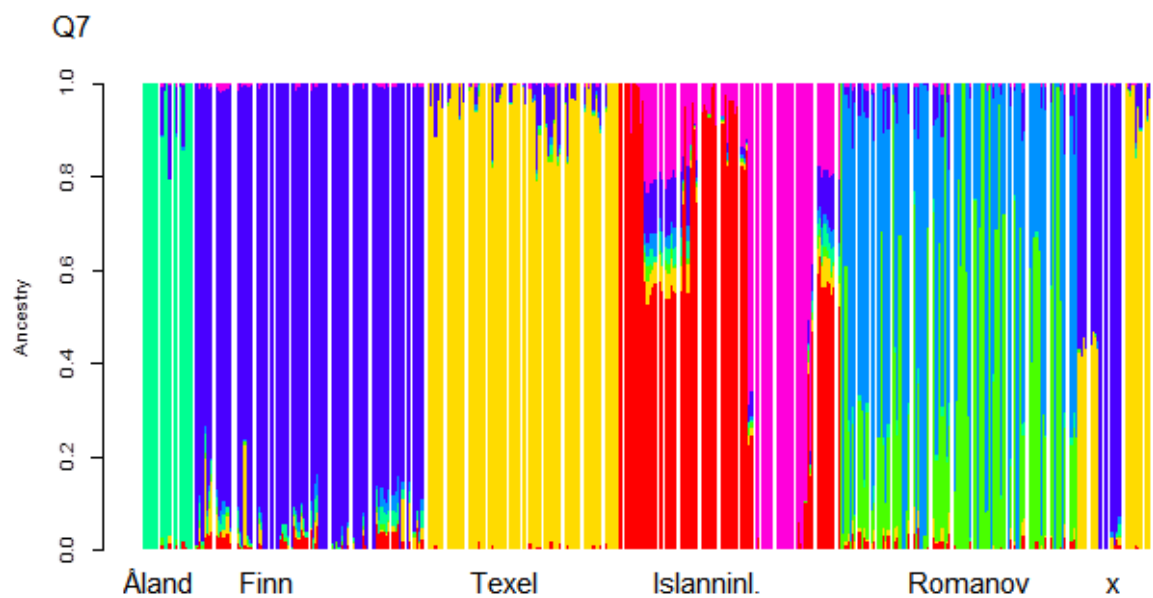
5.6. Populaatioiden sekoittuminen

Populaatioiden sekoittumista on esitetty kuvissa 11-13. Kuvissa rotujen järjestys on ahvenanmaanlammas (Åland), suomenlammas (Finn), texel, islanninlammas ja romanov. Viimeinen X-ryhmä sisältää tutkimuksessa mukana olleita risteytyksiä. Jokainen tutkimuksen rotu erottuu selvästi omaksi ryhmäksi. Suomenlammas ja ahvenanmaanlammas ovat melko yhtenäisiä eikä niissä näy ala-populaatiota, vaikka potentiaalisten populaatioiden määrää (K) kasvatetaan. Kuvista voidaan myös nähdä, että ahvenanmaanlammas erottuu suomenlampaasta selvästi joka kuvassa, mutta yksittäisissä lampaissa on havaittavissa kummankin rodun alkuperää, mikä selittyy rotujen historiassa ajalla, jolloin rotuja ei ollut vielä eroteltu. Texel ja romanov muodostavat omat ryhmänsä. Niissä on myös havaittavissa jonkinasteista sekoittumista muihin populaatioihin; esimerkiksi Suomessa olevissa texel-lampaissa on havaittavissa yhteyksiä suomenlampaaseen ja kun lisätään alapopulaatioiden määrää, texel-lampaiden sisällä esiintyy kahta eri ala-populaation alkuperää eri prosenttiosuuksilla. Romanovit ovat hyvin monimuotoinen rotu. Kuvien perusteella islanninlammas on myös monimuotoinen rotu, jonka voi mahdollisesti jakaa erillisiksi alapopulaatioiksi. Islanninlampaan näytteet oli kerätty useasta katraasta Islannissa, joten kuvissa voi näkyä alueellinen vaihtelu lammaspopulaatiossa. Risteytyslampaat sijoittuvat kuvan perusteella suomenlampaan ja

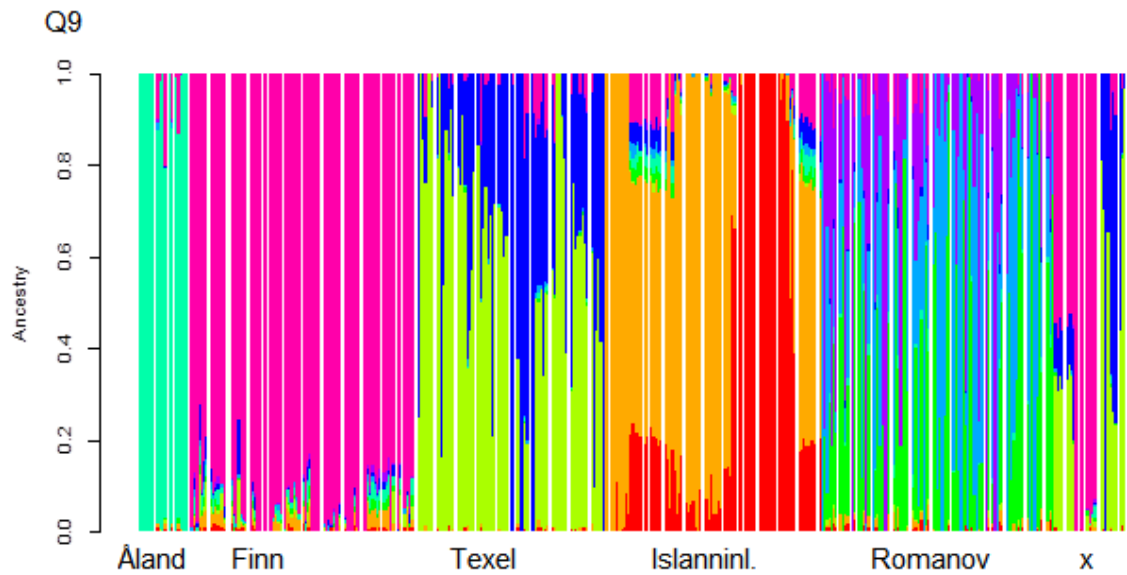
texelien välille, joten ne todennäköisimmin ovat juuri näiden rotujen risteytyksiä. Rotujen osuudet ovat hyvin havaittavissa värien perusteella joka kuvassa.



Kuva 11. Populaatioiden geneettinen tausta Admixture-ohjelmaan perustuen (K=6)



Kuva 12. Populaatioiden geneettinen tausta Admixture-ohjelmaan perustuen (K=7)



Kuva 13. Populaatioiden geneettinen tausta Admixture-ohjelmaan perustuen (K=9)

6. TULOSTEN TARKASTELU

Tässä opinnäytetyössä oli käytettävissä 435 lampaan genotyypit viidestä eri rodusta. (suomenlampaita 112, ahvenanmaanlampaita 22, texeleitä 94, islanninlampaita 96 ja romanov-rotuisista lampaita 102). Näytteet oli genotyyppitetty Illumina ovine 700K BeadChip-sirulla. Genotyyppitys oli onnistunut hyvin (korkea CR-arvo sekä eläin- että markkerikohtaisesti). Aineistoa voidaan pitää korkealaatuisena ja määrältään riittävänä populaatioiden yhtenäisyyttä ja erilaisuutta tutkittaessa.

ROH on erinomainen keino arvioida rotujen sukusiitosta, jos sukupuutietoja ei ole saatavilla. ROH-tutkimusten vertailua vaikeuttaa kuitenkin se, että ROH:ien etsimisessä voidaan käyttää erilaisia parametreja, kuten ROH:n pituus, SNP lukumäärä ROH:ssa, yksittäisten heterotsygoottisten genotyyppien salliminen ROH:n keskellä ym. (Peripolli ym. 2016). Yleiset ja lyhyet, noin 500kb:n pituiset, ROH:t johtuvat yleensä kytKentäepätasapainosta (Al-Mamun ym. 2015). Analysoimalla ROH:ien pituuksia voidaan selvittää, onko sukusiitos viimeaikaista vai tapahtunut kauempana sukupuussa. Sukusiitos, joka johtuu lähihistoriassa olevista esivanhemmista, on todennäköisesti haitallisempaa kuin kaukaisista esivanhemmista johtuva, koska luonnonvalinta ei ole

ehtinyt karsia (engl. purging eli puhdistus) eläinten elinkykyä mahdollisesti huonontavia geenimuotoja (Kardos ym. 2015). Pitkät ROH:it viittaavat yksilöiden läheiseen sukulaisuuteen. Yli 10 Mb pitkät jaksot voivat liittyä myös genomialueeseen kohdistuneeseen valintaan (Kim ym. 2015). Populaatiossa voimakkaasti yleistynyt ROH voi liittyä joko sopeutumiseen tietynlaiseen ympäristöön tai sen suotuisasta vaikutuksesta tuotantoon (Kim ym. 2015).

Tässä tutkielmassa havaittiin, että romanovilla on muihin rotuihin verrattuna vähän pitkiä ROH:ja. Pitkien jaksojen puuttuminen voi viitata siihen, ettei rotuun ole kohdistunut voimakasta valintapainetta tai lähihistoriassa on vältetty läheisten sukulaisten parittamista. Texelillä on roduista eniten lyhyitä, 1-5 Mb:n pituisia, ROH:ja, mikä todennäköisesti selittyy rodun suhteellisen suurella populaatiokoolla ja käytännöllä, jossa pyritään estämään sukulaistumista. Koska texel on pitkään ollut aktiivisen jalostusvalinnan kohteena, olisi myös mielenkiintoista tutkia, millä geenialueilla pisimmät ROH:it sijaitsevat, esim. sijaitsevatko ne tuotannon vaihteluun liittyvillä kromosomialueilla.

Islanninlampaalla on tutkimuksen roduista eniten pitkiä yli 1 Mb:n ROH:ja. Tulos on järkevä rodun maantieteellisen sijainnin vuoksi. Tuloksista ei voi sanoa, ovatko pitkät jaksot historiallisia ja lähtöisin perustajayksilöistä, vai ovatko jaksot muodostuneet äskettäin valinnan vaikutuksesta. Jotta pitkien ROH:ien lähde saataisiin selville, pitäisi verrata tuloksia tutkittujen islanninlampaiden sukutauluihin, joita tässä tutkimuksessa ei ollut saatavilla.

Tässä tutkielmassa käytetty yli 600 000 SNP:in sirulla saadaan luotettavampia sukusiitoksen arvioita kuin esim. 50 000 SNP sisältävällä sirulla. Naudoilla rodun sisäiseen tutkimukseen riittää 10 000 SNP-markkerin paneeli, mutta rotujen välinen tutkimus tarvitsee noin 300 000 SNP-markkeria (Goddard ym. 2009). Pelkän sukusiitoksen ja sukulaisuuksien selvittämiseen riittää harvempikin SNP-paneeli (Li ym. 2011). Rotujen välisiin tutkimuksiin vaadittu SNP-markkerien määrä vaihtelee paljon riippuen mm. rotujen historiasta ja kuinka kauan rotujen eriytymisestä on kulunut aikaa (Al-Mamun ym. 2015). Tutkimuksen roduista nämä ehdot täyttyviä ovat suomenlammas ja romanov.

Tässä tutkimuksessa saadut F_{PH} / F_{ROH} -, F_{HOM}/F_{ROH} - ja F_{HOM}/ F_{PH} -korrelaatioiden tulokset ovat korkeammat kuin naudoilla 50k SNP-paneelilla tehdyissä tutkimuksissa.

Naudoilla korrelaatiot eri sukusiitosastelaskelmien välillä ovat olleet 0,60-0,80:n luokkaa (Zhang ym. 2015). Holsteineilla tehdyllä 54 000 SNP-merkin paneelilla tehdyssä tutkimuksessa korrelaatio F_{HOM} :n ja F_{ROH} :n välillä oli 0,81, sekä F_{ROH} :n ja genomisen sukulaisuusmatriisista lasketun sukusiitoksen välillä 0,81 (Bjelland ym. 2013). Tämän tutkimuksen korkeammat korrelaatiot johtuvat todennäköisesti suuremmasta SNP:ien määrästä.

Aikaisemmassa suomenlampaan sukusiitosastetta kartoittavassa tutkimuksissa (Li ym. 2011) keskimääräinen sukusiitosaste oli 0,02. Tässä tutkielmassa käytettiin sukulaistietojen sijasta genomitietoa ja arviot suomenlampaan keskimääräisestä sukusiitosasteesta ovat hieman korkeammat (0,09). Pieni ero voi johtua otoskoosta tai siitä, että suljetussa populaatiossa sukusiitosasteet ovat vuosien aikana hieman nousseet. Sukulaisuusaineistoon verrattuna genomiaineisto voi antaa myös korkeampia sukusiitosarvoja, koska sukutiedot voivat olla puutteellisia (Li ym. 2011, Zhang ym. 2015).

Li ym. (2011) mukaan suomenlammas voidaan jakaa alapopulaatioihin lampaiden värien ja maantieteellisen sijainnin mukaisesti. Tässä tutkielmassa ei tullut ilmi suomenlampaiden mahdollinen alapopulaatiorakenne, luultavasti aineiston pienuuden vuoksi. Tarkastelu rajoittui muutenkin rotujen välille eikä niinkään rotujen sisällä mahdollisesti olevien alapopulaatioiden välille.

Tanskalaisen texel-populaation keskimääräisen sukusiitosasteen on arvioitu olevan 0,06 (Norberg ym. 2014). Arvo on alempi kuin tässä tutkielmassa, mikä saattaa johtua populaation erilaisesta rakenteesta. Suomessa texelien määrä on pienempi, joten lampaiden keskinäinen sukulaisuus voi nousta nopeammin kuin suuremmassa tanskalaisessa populaatiossa.

Aikaisemmissa tutkimuksissa on todettu suomenlampaan geneettisen monimuotoisuuden olevan varsin vakio viimeisten tuhannen vuoden aikana. Ahvenanmaanlammas on kärsinyt vakavasta pullonkaulasta, joka on aiheuttanut monimuotoisuuden laskun ja sukusiitosasteen nousun populaatiossa (Niemi ym. 2013). Tämän tutkielman mukaan ahvenanmaanlammas on homotsygoottisempi ja täten ahvenanmaanlampaiden keskimääräinen sukusiitosaste on korkeampi kuin muilla roduilla. Admixture-analyysin mukaan ahvenanmaanlammas jakaa yhteistä perimää suomenlampaan kanssa, mikä sopii rodun historiaan hyvin.

Islanninlampaan sukusiitosasteet ovat verraten korkeita, mikä selittyy maantieteellisestä eristäytymisestä. Myös rodun elinolosuhteet ovat välillä haastavat johtaen ympäristöstä johtuvaan valintapaineeseen ja mahdollisiin pullonkauloihin. Rodusta löytyy kuitenkin monimuotoisuutta ja mahdollisia alapopulaatioita. Geneettisen sekoittumisen (Admixture) perusteella romanov-rotuiset lampaat ovat hyvin erisukuisia ja monimuotoisia, vaikka näytteet on kerätty yhdestä suuresta katraasta Venäjällä. Romanovit ovat hyvin monimuotoinen rotu. Romanov-rodusta havaittu vaihtelu tukee Tapio ym:n (2007) tuloksia, joissa todettiin Volgan alueen rotujen risteytyneen muihin alkukantaisiin ja länsimaisiin rotuihin.

Sukusiitoksen perusteella ei voida suoraan arvioida rodun monimuotoisuuden tasoa, sillä hyvinkin sukusiitetyt vanhemmat voivat tuoda populaatioon monimuotoisuutta jos niillä on harvinaisia alleeleja (Tapio ym. 2005). Jotta geneettinen monimuotoisuus säilyisi tulevaisuudessa, tarvitaan seurantaa ja suojelua (Tapio ym. 2005). ROH:n määrittäminen antaa kuitenkin käytännön työkalun säilytystyöhön. Eläin, jolla on hyvin pitkiä ROH:ja, voidaan karsia jalostuskäytöstä ja vastaavasti monimuotoisempaa yksilöä käyttää enemmän (Peripolli ym. 2016).

7. JOHTOPÄÄTÖKSET

Lampaiden domestikaatiotutkimusten mukaan lampaat ovat monimuotoisempia lähellä paikkaa, josta ensimmäiset lampaat ovat lähtöisin (Tapio ym. 2005). Tämän teorian mukaan tutkimuksen lammasrotujen monimuotoisuuden pitäisi olla järjestyksessä monimuotoisimmasta alkaen romanov, suomenlammas, ahvenanmaanlammas, islanninlammas ja viimeisenä toisen domestikaatioaallon texel. Tämän tutkimuksen mukaan järjestys on varsin sama. Monimuotoisin on romanov, seuraavana suomenlammas, texel, islanninlammas ja ahvenanmaanlammas viimeisenä. Järjestyksen voi hyvin selittää ahvenanmaanlampaan historialla ja islanninlampaan eristäytyneisyydellä.

Tutkimuksen tulosten perusteella kotimaisten rotujen geneettisen monimuotoisuuden tilanne on hyvä ja kestäväällä pohjalla. Jotta tilanne pysyisi hyvänä, on tärkeää jatkaa lammasrekisterien ja jalostusohjelmien ylläpitoa ja edelleen panostaa säilytysohjelmaan. Lampaiden jalostusohjelmista puuttuva tehokas ja järjestelmällinen keinosiemennys

näyttää suojelevan rotujen monimuotoisuutta. Vaikka populaatiot ovat pieniä, yhden pässin vaikutus ei pääse leviämään kohtuuttomasti. ROH:iin perustuvat sukusiitoslaskelmat sopivat hyvin lammaspopulaatioille, kun kattavia sukutaulutietoja ei ole käytettävissä.

8. LÄHTEET

Al-Mamun H., Clark S., Kwan P. ja Gondro C. (2015) Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genetics Selection Evolution* 47:90.

Bjelland D.W., Weigel K.A., Vukasinovic N., ja Dkrumah J.D. (2013) Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *Journal of Dairy Science* 96:4697-4706.

Curik I., Ferenčaković M. ja Sölkner J. (2014) Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science* 166:26-34.

Excoffier L. 2007. Analysis of Population Subdivision. Teoksessa: D.J Balding, M. Bishop ja C. Cannings (toim.) *Handbook of Statistical Genetics*, Third edition. John Wiley & Sons, Ltd. Kappale 9, sivut: 980-981. ISBN: 978-0-470-05830-5.

Goddard M. ja Hayes B. (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and theirs use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics*, 10:381-391.

Gomez-Raya L., Rodríguez C., Barragán C. ja Silió L. (2015) Genomic inbreeding coefficients based on the distribution of the length of runs of homostygoty in closed line of Iberian pigs. *Genetics Selection Evolution*, 47:81.

Kardos M., Luikart G. ja Allendof FW (2015). Measuring individual inbreeding in the age of genomics: marker-based measures are better than pedigrees. *Heredity* 115:63-72. doi: 10.1038/hdy.2015.17.

Kijas JW., Townley D., Dalrymple BP., Heaton MP., Maddox JF ja McGrath A (2009) A Genome Wide Survey of SNP Variation Reveals the Genetic Structure of Sheep Breeds. *PLoS ONE* 4(3): e4668. doi:10.1371/journal.pone.0004668.

Kim E., Sonstegard T., Van Tassell C., Wiggans G. ja Rothschild F. (2015) The Relationship between Runs of Homozygosity and Inbreeding in Jersey Cattle under Selection. *PLOS ONE* 10(7):e0129967. doi:10.1371/journal.pone.0129967.

Li M., Strandén I. ja Kantanen J. (2009) Genetic diversity and pedigree analysis of the Finnsheep breed. *American Society of Animal Science*. 87:1598-1605.

Li M., Strandèn I., Tiirikka T., Sevón-Almonen M. ja Kantanen J. (2011) A comparison of approaches to estimate the inbreeding coefficient and pairwise relatedness using genomic and pedigree data in a sheep population. PLoS ONE 6(11):e26256. doi:10.1371/journal.pone.002256.

Niemi M., Bläuer A., Iso-Touru T., Nyström V., Harjula J., Taavitsainen J., Storå J., Lindén K. ja Kantanen J. (2013) Mitochondrial DNA and Y-chromosomal diversity in ancient populations of domestic sheep (*ovis aries*) in Finland: comparison with contemporary sheep breeds. Genetics Selection Evolution 45:2.

Norberg E. ja Sørensen A. (2007) Inbreeding trend and inbreeding depression in the Danish populations of Texel, Shropshire, and Oxford Down. Journal of Animal Science 85:299-304.

Peripolli E., Munari D., Silva M., Lima A., Irgang R. ja Baldi F. (2016) Runs of homozygosity: current knowledge and applications in livestock. Animal Genetics 48: 255-271.

Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P., Daly M. ja Sham P. (2007) PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. American Journal of Human Genetics, Volume 81: 559-575.

Purfield D., Berry D., McParland S. and Bradley D. (2012) Runs of homozygosity and population history in cattle. BMC Genetics 13:70, <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/13/70>.

Tapio M., Ozerov M., Tapio I., A Toro M., Msrzanov N., Cinkulov M., Goncharenko G., Kiselyova T., Murawski M. ja Kantanen J. (2010) Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. BMC Genet. 11:76. doi: 10.1186/1471-2156-11-76.

Tapio M., Ozerov M., Viinalass H., Kiselyova T. and Kantanen J. (2007) Molecular genetic variation in sheep of the central Volga area inhabited by Finno-Ugric peoples. Agricultural and Food Science. 16:157-169.

Tapio M., Tapio I., Grislis Z., Holm E., Jeppsson S., Kantanen J., Miceikiene I., Olsaker I., Viinalass H. ja Eythorsdottir E. (2005) Native breeds demonstrate high contributions

to the molecular variation in northern European sheep. *Molecular Ecology* 14:3951-3963.

Zhang Q., Calus M., Guldbrandtsen B., Lund M. ja Sahana G. (2015) Estimation of inbreeding using pedigree, 50k SNP chip genotypes and full sequence data in three cattle breeds. *BMC Genetics* 16:88.

Linkki Illuminan sirun mainossivulle. Lainattu 27.2.16:

https://www.google.fi/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjtvKw5jLAhVKDZoKHZECAZgQFggZMAA&url=https%3A%2F%2Fpag.confex.com%2Fpag%2Fxxii%2Fwebprogram%2FHandout%2FPaper10725%2FPosterPAG%2520Jan%25202014%2520Finalv.pdf&usg=AFQjCNHdXpR7Ijz2eBetdt4hJWMjLL3_7A&sig2=j3EycnoiLlyWW5py7f4qtA&bvm=bv.115339255,d.bGs

ISGC 2012 http://sheephapmap.org/news/ISAG_75_genomes.pdf / Viitattu 3.2.2017.